粘虫高龄幼虫对转 Bt 基因玉米的消化和利用

王冬妍[1,2]，王振营[1*]，何康来[1]，丛 斌[2]，文丽萍[1]，白树雄[1]
（1. 中国农业科学院植物保护研究所，北京 100094，2. 沈阳农业大学植物保护学院，沈阳 110161）

摘要：在室内用重量法研究了粘虫 *Mythimna separata*（Walker）高龄幼虫对转 Bt 基因玉米 MON810 和 Bt11 叶片的消化和利用，以明确 Bt 玉米对暴食期幼虫取食的影响。结果表明，在连续测定的 5 天中，取食 MON810 和 Bt11 两种 Bt 玉米叶片时，幼虫存活率和取食量均显著低于各自的对照组幼虫，取食 Bt 玉米叶片的幼虫体重呈下降趋势，第 3 天时分别比第 2 天减少 12.2 mg 和 7.4 mg，而取食对照玉米叶片时的幼虫日增重显著的高于处理组的幼虫，第 3 天的日增重分别为 100.4 mg 和 119.9 mg。取食 Bt 玉米叶片的幼虫对食物的转化率（ECI 和 ECD）均为负值，在最初 4 天的 ECI 和 ECD 都显著低于对照组幼虫，但取食两种非 Bt 玉米叶片的幼虫的近似消化率（AD）随取食时间的延长而逐渐下降，取食第 5 天分别为 20.6 % 和 15.1 %；而取食 MON810 和 Bt11 叶片时幼虫的 AD 均显著地高于对照组幼虫。

关键词：粘虫；Bt 玉米；CryIAb 杀虫蛋白；取食量；食物利用率
中图分类号：Q965，Q968 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2004)02-0141-05

Food consumption and utilization of the fifth instar larvae of *Mythimna separata* (Walker) feeding on the leaves of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn expressing CryIAb protein

WANG Dong-Yan[1,2], WANG Zhen-Ying[1*], HE Kang-Lai[1], CONG Bin[2], WEN Li-Ping[1], BAI Shu-Xiong[1] (1. Center for Biosafety Research, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 2. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: Consumption and utilization of the 5th instar larvae of *Mythimna separata* (Walker) feeding on the leaves of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn were assayed in the laboratory. Two Bt corn hybrids with events MON810 and Bt11 expressing CryIAb protein and their non-Bt controls were employed in the bioassays. Results showed that the survival rate of the 5th instar larvae of *M. separata* was significantly lower when fed on MON810 and Bt11 leaves. The food ingestion was 88.1 mg and 115.4 mg, respectively, when larvae fed on MON810 and Bt11, whereas 653.6 mg and 715.4 mg when fed on non-Bt corn DK647 and NX4906 separately, at 4th day. The larvae exhibited an average weight loss of 12.2 mg and 7.4 mg when fed on MON810 and Bt11 leaves, and showed an average weight gain of 100.4 mg and 119.9 mg when fed on two non-Bt controls at 3rd day. The efficiency of conversion of ingested food (ECI) and efficiency of conversion of digested food (ECD) by the larvae feeding on the two Bt corn leaves were significantly lower than by the larvae feeding on non-Bt corn hybrids. This indicated that the Bt corn significantly restrained the feeding, food consumption and utilization of the 5th instar larvae of *M. separata*. However, the approximate digestibility (AD) by the larvae was much higher when fed on Bt corn leaves than on non-Bt corn controls, and a possible explanation is that the digestion function of the larvae fed the Bt corn leaves was restrained as a result of the toxication by Bt toxin.

Key words: *Mythimna separata*; Bt corn; CryIAb protein; food ingestion; food utilization

粘虫 *Mythimna separata*（Walker）是一种多食性害虫，主要为害稻、麦、粟、黍、玉米、高粱、糜子、甘蔗等作物及禾本科牧草和芦苇。东北春玉米区和华北夏玉米种植区常遭受二、三代粘虫严重危害，造成大幅度减产，甚至颗粒无收（李光博，1995）。由于许多田间杂草是粘虫的寄主植物，若玉米田杂草较多，

基金项目：国家“973”课题（001CB109004）；“863”课题（2002AA212161）资助
作者简介：王冬妍，女，1977 年生，硕士，主要从事 Bt 玉米抗虫效果评价研究，E-mail：wangdongyan2008@sina.com
* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：zywang@ippcaas.cn
收稿日期 Received：2003-07-22；接受日期 Accepted：2004-01-08

则易引起粘虫的发生为害(赵圣菊,1988)。粘虫幼虫取食主要集中在5、6龄期,取食量分别占全幼虫期的14.3%和75.1%,为暴食阶段(李光博,1995)。

转Bt基因抗虫玉米对玉米螟等鳞翅目害虫具有很好的杀虫效果(Koziel *et al.*, 1993; Archer *et al.*, 2000, 2001; He *et al.*, 2003),已在美国等7个国家商业化种植,2002年Bt玉米的播种面积已达770万公顷(James, 2002)。我国研发的转Bt基因玉米以及美国孟山都公司的MON810和瑞士诺华公司(现为先正达公司)的Bt11转Bt基因抗虫玉米也先后被批准在我国部分省区进行中间试验和环境释放(environmental release)。室内生测结果表明,转Bt基因抗虫玉米对粘虫初孵幼虫具有很好的杀虫活性(王冬妍,2003),本文报道转Bt抗虫玉米对粘虫高龄幼虫取食及食物利用的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源:粘虫卵由中国农业科学院植物保护研究所粘虫研究组提供,初孵幼虫用高油298玉米苗饲养,养虫室温度26℃±1℃,相对湿度75%~80%,光照14L:10D。实验所用的5龄粘虫是蜕皮后不超过24 h的鲜重相近的幼虫。

供试玉米品系:分别为孟山都公司的MON810(品种为DK647BTY)和诺华公司的Bt11(品种为NX4777)2种Bt玉米,均为转cryIAb杀虫蛋白基因的Bt玉米,以各自的非转Bt玉米DK647和NX4906作为对照。供试玉米种植在中国农业科学院植物保护研究所试验田,每小区30 m^2(6 m×5 m),行距60 cm,株距33 cm。试验小区随机排列,试验重复3次。生长期不施用任何农药,常规管理。

1.2 方法

在玉米10叶期,取第6、7叶片用作室内生测。叶片消毒晾干后剪成5 cm×3 cm的小片,放入塑料养虫盒(3 cm×5 cm)中,接入1头已称重的粘虫5龄幼虫,所放叶片可以满足1头5龄幼虫1天的取食,10头幼虫为1个处理,试验重复5次。在26℃±1℃,相对湿度80%左右,光照14L:10D的条件下饲养。每24 h检查一次,连续检查5次,每次检查记录存活虫数,并用1/10 000电子分析天平(TA450型,美国CAHN公司)称量单头幼虫的虫重、放入的食物重、剩余食物重及虫粪重,具体的测定方法参照罗礼智等(1995)。

为减少叶片因含水量改变而发生的重量变化,参照罗礼智等(1995)的方法,在试验的同时设空白对照,计算校正取食量、近似消化率(AD)、毛转化率(ECI)和净转化率(ECD)等食物利用参数(陈志辉,1987; Houseman *et al.*, 1992)。

应用SAS软件对试验数据进行方差分析,处理间的差异显著性采用Duncan测验法。

2 结果与分析

2.1 存活率和化蛹历期

粘虫5龄幼虫在取食试验开始时各处理的体重没有显著差异。粘虫在取食转Bt玉米(MON810和Bt11)叶片1天后,即出现死亡,取食MON810叶片的幼虫存活率在最初2天比取食Bt11叶片的高,到第4~5天时,又比取食Bt11叶片的低,呈显著差异。取食MON810和Bt11叶片的高龄幼虫分别在试验的第7天和第8天全部死亡,说明转Bt玉米MON810和Bt11对高龄粘虫具有很好的抗虫作用。而在两种对照玉米(DK647和NX4906)叶片上取食的幼虫在5天的试验期间全部存活,全部进入6龄,且有些已进入预蛹阶段,到化蛹时的平均历期也没有显著差异(表1)。

表1 粘虫5龄幼虫起取食转Bt玉米叶片时的存活率(26℃±1℃)

Table 1 Survival rate of *Mythimna separata* 5th-instar larvae since feeding on leaves of Bt and non-Bt corn at 26℃±1℃

品种 Corn hybrids	供试虫数 *n*	起始体重(mg) Initial weight	存活率 Survival rate (%)					到化蛹的时间(天) Days till pupation
			第1天 1st day	第2天 2nd day	第3天 3rd day	第4天 4th day	第5天 5th day	
MON810	5×10	158.5±39.0 a	92.0±8.4 ab	80.0±12.3 b	56.0±20.7 b	14.0±11.4 c	10.0±10.0 c	–
DK647 (CK)	5×10	156.6±35.4 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	8.3±1.3 a
Bt11	5×10	149.2±41.2 a	88.0±8.4 b	60.0±25.5 c	44.0±21.9 b	31.0±23.0 b	22.0±14.8 b	–
NX4906 (CK)	5×10	144.1±61.3 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	8.4±1.2 a

表内数据为平均值±*SD*,数据后有不同字母分别代表差异显著($P<0.05$),Duncan测验,下同 The data in the table are means±*SD* and those followed by different letters differ significantly at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test. The same for the following tables.

2.2 取食量、排粪量和虫体增重

粘虫 5 龄幼虫起在两种对照玉米(DK647 和 NX4906)叶片上的取食量均在第 4 天达到最大值,分别是在转 Bt 玉米(MON810 和 Bt11)叶片上取食量的 7.42 倍和 6.20 倍,用转 Bt 玉米的叶片饲养时,供试幼虫在第 1 天的取食量仅分别为各自对照组的 1/2 和 1/3 左右,第 2 天的取食量均显著减少,此后的取食量虽然缓慢增加,但始终未超过第 1 天的取食量。高龄幼虫在 Bt 玉米叶片上的取食量始终极显著的低于对照玉米,说明 Bt 玉米明显抑制了粘虫高龄幼虫的取食(表 2)。

取食 Bt 玉米的粘虫高龄幼虫由于取食量较少,日排粪量也较少,取食 MON810 和 Bt11 玉米叶片的幼虫日排粪量分别在 11.7 ~ 15.9 mg 和 13.0 ~ 21.9 mg 之间,两者差异不显著。取食对照玉米 DK647 和 NX4906 叶片的高龄幼虫排粪量在 1 ~ 4 天 随取食量的增加而逐渐增加,第 4 天达最大值,到第 5 天开始下降,但仍显著大于取食 Bt 玉米叶片的相应日龄幼虫的排粪量(表 2)。

表 2 粘虫 5 龄幼虫起对转 Bt 玉米叶片的摄食、排泄和虫体增重(26℃ ± 1℃)

Table 2 Food ingestion, feces and weight gain of *Mythimna separata* 5th-instar larvae feeding on leaves of Bt and non-Bt corn since 5th instar at 26℃ ± 1℃

品种 Corn hybrids	取食时间 Feeding time				
	第 1 天 1st day	第 2 天 2nd day	第 3 天 3rd day	第 4 天 4th day	第 5 天 5th day
取食量 Food ingestion (mg)					
MON810	127.8 ± 29.7 c	54.1 ± 10.6 b	84.1 ± 19.3 b	88.1 ± 22.8 b	113.3 ± 16.9 b
DK647(CK)	248.1 ± 45.5 a	396.2 ± 66.7 a	543.9 ± 60.9 a	653.6 ± 22.7 a	561.1 ± 76.0 a
Bt11	136.7 ± 16.0 c	70.6 ± 8.1 b	90.2 ± 15.0 b	115.4 ± 19.6 b	118.3 ± 18.6 b
NX4906 (CK)	382.5 ± 31.3 b	339.0 ± 46.5 a	567.1 ± 25.5 a	715.4 ± 29.5 a	685.9 ± 37.1 a
排泄量 Feces (mg)					
MON810	15.9 ± 2.1 b	11.7 ± 5.2 b	13.4 ± 7.9 b	14.3 ± 11.8b	14.6 ± 8.0 b
DK647(CK)	143.3 ± 45.4 a	224.1 ± 53.3 a	354.6 ± 42.0 a	462.2 ± 7.8 a	238.6 ± 47.2 a
Bt11	21.9 ± 2.5 b	18.5 ± 3.6 b	12.9 ± 4.4 b	20.6 ± 17.5 b	15.2 ± 4.8 b
NX4906 (CK)	170.1 ± 19.9 a	185.2 ± 34.3 a	375.4 ± 23.0 a	522.3 ± 30.8 a	280.8 ± 27.5 a
增重 Weight gain (mg)					
MON810	− 12.8 ± 7.6 b	− 7.2 ± 3.9 b	− 12.2 ± 8.6 b	− 1.5 ± 1.5 b	− 8.5 ± 2.4 a
DK647(CK)	46.7 ± 23.2 a	87.7 ± 28.7 a	100.4 ± 20.5 a	87.7 ± 49.7 a	5.3 ± 51.9 a
Bt11	− 21.7 ± 5.4 b	− 10.3 ± 2.5 b	− 7.4 ± 4.4 b	− 0.1 ± 17.3 b	− 8.7 ± 5.6 a
NX4906 (CK)	65.0 ± 29.2 a	69.1 ± 25.2 a	119.9 ± 37.5 a	89.2 ± 20.7 a	8.5 ± 34.6 a

2.3 高龄幼虫对转 Bt 玉米的消化和利用

取食 Bt 玉米的粘虫高龄幼虫在第 1 ~ 5 天日体重增重均为负值,以第 1 天幼虫减重最多,说明取食 Bt 玉米叶片严重抑制了幼虫的生长发育。取食两种 Bt 玉米叶的幼虫日重变化没有明显差异。而取食 DK647 和 NX4906 叶时,供试幼虫的日平均增重在最初 3 天随取食天数的延长而明显增加,第 3 天时达到最大值,第 4 天增重开始减缓,到第 5 天时,增重已经很小,即将进入预蛹阶段。对照组高龄幼虫在 1 ~ 4 天的增重极显著地大于试验组的相应值(表 2)。

取食两种对照玉米叶片的幼虫的近似消化率随取食时间的延长而逐渐下降;而取食 MON810 和 Bt11 叶片幼虫的近似消化率则在一定范围内上下波动,但均显著的高于对照组的相应值(表 3)。

取食两种 Bt 玉米叶时粘虫从 5 龄起的毛转化率和净转化率均为负值,且均在第 4 天都达最大值,两种 Bt 玉米间差异不显著,但在取食的 1 ~ 4 天与对照组之间存在显著差异。取食对照玉米 DK647 和 NX4906 叶片的粘虫高龄幼虫毛转化率分别在第 2 天和 3 天增至最大值,净转化率则在 1 ~ 3 天逐渐升高,均在第 3 天达到最大值,之后逐渐降低,到第 5 天时,与取食 Bt 玉米的幼虫差异不显著(表 3)。

表 3 粘虫 5 龄幼虫起对转 Bt 玉米叶片的近似消化率(AD)、毛转化率(ECI)和净转化率(ECD)(26℃ ± 1℃)

Table 3 Digestion and utilization of Bt and non-Bt corn leaves by *Mythimna separata* 5th-instar larvae at 26℃ ± 1℃

品种 Corn hybrids	取食时间 Feeding time				
	第 1 天 1st day	第 2 天 2nd day	第 3 天 3rd day	第 4 天 4th day	第 5 天 5th day
近似消化率 AD(%)					
MON810	87.3 ± 2.0 a	77.9 ± 4.1 a	84.3 ± 7.6 a	86.3 ± 7.8 a	77.8 ± 15.7 a
DK647(CK)	46.3 ± 12.7 b	46.4 ± 10.5 b	34.9 ± 5.6 b	29.3 ± 2.5 b	20.6 ± 5.8 b
Bt11	83.6 ± 4.3 a	73.4 ± 11.6 a	82.5 ± 5.8 a	82.9 ± 4.8 a	83.4 ± 5.8 a
NX4906(CK)	54.5 ± 12.2 b	46.7 ± 6.2 b	33.9 ± 2.5 b	27.2 ± 1.6 b	15.1 ± 4.0 b
毛转化率 ECI(%)					
MON810	–11.1 ± 7.8 b	–18.3 ± 7.2 b	–16.0 ± 2.6 b	–6.9 ± 6.4 b	–7.7 ± 2.8 a
DK647(CK)	18.4 ± 7.1 a	23.0 ± 5.3 a	18.9 ± 3.9 a	13.3 ± 3.2 a	–1.3 ± 9.9 a
Bt11	–16.1 ± 3.2 b	–15.5 ± 6.6 b	–9.9 ± 3.4 b	–3.5 ± 6.3 b	–9.1 ± 8.3 a
NX4906(CK)	17.3 ± 7.5 a	20.2 ± 2.2 a	21.1 ± 2.6 a	12.4 ± 1.0 a	1.3 ± 4.9 a
净转化率 ECD(%)					
MON810	–12.8 ± 4.0 b	–24.0 ± 3.3 b	–18.2 ± 4.2 b	–5.3 ± 8.3 b	–10.6 ± 5.6 a
DK647(CK)	43.4 ± 9.6 a	50.0 ± 8.2 a	54.8 ± 10.3 a	43.2 ± 7.5 a	–20.0 ± 28.6 a
Bt11	–19.5 ± 2.2 b	–21.7 ± 9.8 b	–12.6 ± 4.5 b	–2.9 ± 7.9 b	–10.9 ± 10.0 a
NX4906(CK)	34.6 ± 8.1 a	43.9 ± 8.7 a	61.59 ± 3.8 a	46.3 ± 4.9 a	6.2 ± 14.2 a

3 小结

许多田间杂草是粘虫的寄主植物,若玉米田杂草较多,则易引起粘虫的发生为害,因低龄幼虫常在杂草上取食,然后再转移到玉米上为害(赵圣菊,1988)。高龄幼虫的暴食习性,很可能对玉米造成严重损失。因此,对暴食期高龄幼虫的控制效果直接关系到 Bt 玉米在防治玉米田粘虫中所起的作用。已有的研究表明,当敏感的昆虫摄食的 Bt 蛋白进入中肠后,经过溶解和激活作用,释放出核心片段,然后作用于中肠上皮细胞,引起该细胞的膨胀和裂解,最后导致昆虫肠道功能丧失,直至幼虫死亡(Knowles and Dow,1993)。本文通过测定表明,粘虫 5 龄幼虫起取食 Bt 玉米叶片后,显著抑制了幼虫的取食和对食物的消化、利用率,严重影响了幼虫的生长发育,表现在取食量上显著低于对照组幼虫,幼虫体重不断减轻,虫粪排泄量、毛转化率和净转化率等食物利用参数均显著低于取食非 Bt 玉米的幼虫,最终导致幼虫死亡。可见,转 cryIAb 杀虫蛋白基因的 Bt 玉米可以有效地减轻粘虫高龄幼虫的危害。

致谢 本文初稿承蒙中国农业科学院植物保护研究所罗礼智研究员审阅,本所粘虫研究组提供本研究所用粘虫卵,在此谨致诚挚的谢意。

参 考 文 献 (References)

Archer TL, Patrick C, Schuster G, Cronholm G, Bynum ED Jr, Morrison, WP, 2001. Ear and shank damage by corn borers and corn earworms to four events of *Bacillus thuringiensis* transgenic maize. *Crop Prot.*, 20(2): 139 – 144.

Archer TL, Schuster G, Patrick C, Cronholm G, Bynum ED Jr, Morrison WP, 2000. Whorl and stalk damage by European and Southwestern corn borers to four events of *Bacillus thuringiensis* transgenic maize. *Crop Prot.*, 19(3): 181 – 190.

Chen ZH, 1987. Quantitative measurement and calculation of nutrient index in insects. *Entomol. Knowl.*, 24(5): 299 – 301. [陈志辉, 1987. 昆虫营养指标的定量测定与计算. 昆虫知识, 24(5): 299 – 301]

He KL, Wang ZY, Zhou DY, Wen LP, Song YY, Yao ZY, 2003. Evaluation of transgenic Bt corn for resistance to the Asian corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 96(3): 935 – 940.

Houseman JG, Campos F, Thie NMR, Philogene BJR, Atkinson J, Morand, Arnason TT, 1992. Effect of the maize-derived compounds DIMBOA and MBOA on growth and digestive processes of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 85(3): 669 – 674.

James C, 2002. Global Status of Commercialized Transgenic Crops. ISAAA Briefs, No. 25. Ithaca, NY: ISAAA.

Knowles BH, Dow JAT, 1993. The crystal δ-endotoxins of *Bacillus thuringiensis*: models for their mechanism of action on the insect gut. *Bioassays*, 15: 469 – 476.

Koziel MG, Beland GL, Brown C, Carozzi NB, Crenshaw R, Crossland L, Dawson J, Desai N, Hill M, Kadwell S, Launis K, Lewis K, Maddox D, McPherson K, Meghji MR, Merlin E, Rhodes R, Warren GW,

Wright M，Evola SV，1993. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Bio/Technology*，11(3)：194 – 200.

Li GB，1995. Armyworm. In：Institute of Plant Protection，Chinese Academy of Agricultural Sciences ed. Crop Diseases and Insect Pests (Part I). 2nd ed. Beijing：China Agriculture Press. 697 – 720.［李光博，1995. 杂食性害虫：粘虫. 见：中国农业科学院植物保护研究所主编. 中国农作物病虫害(上册). 第二版. 北京：中国农业出版社. 697 – 720］

Luo LZ，Xu HZ，Li GB，1995. Effects of rearing density on the food consumption and utilization of larval oriental armyworm *Mythimna separata* (Walker). *Acta Entomol. Sin.*，38(4)：428 – 435.［罗礼智，徐海忠，李光博，1995. 粘虫幼虫密度对幼虫食物利用率的影响. 昆虫学报，38(4)：428 – 435］

Wang DY，2003. Evaluation of transgenic corn expressing the *Bacillus thuringiensis* CryIAb toxin for resistance to Asian corn borer，cotton bollworm，beet armyworm and oriental armyworm. MS thesis，Shenyang Agricultural University. 72 – 79.［王冬妍，2003. 转 Bt cryIAb 基因抗虫玉米对亚洲玉米螟、棉铃虫、甜菜夜蛾、粘虫控制效果评价研究. 硕士学位论文，沈阳农业大学. 72 – 79］

Zhao SJ，1988. Armyworm and the Weather. Beijing：China Meteorological Press. 38 pp.［赵圣菊，1988. 粘虫与气象. 北京：气象出版社. 38 页］

(责任编辑：袁德成)